پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۰ (۴):۷۰-۶۱ (۱۴۰۰)- مقاله پژوهشی
Journal of Applied Research in Plant Protection 10(4): 61-70 (2022)-Research Article

DOI: https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2021.13488

مهار زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی نخود با استفاده از قارچ *Rhizophagus irregularis* و کود زیستی نیتروکسین

مرتضی قربانی[۱]✉، سید کاظم صباغ[۲]، اسداله کریمی[۳]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. [۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران. [۳] گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. ✉mghorbany@birjand.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۹ بازنگری: ۱۴۰۰/۱/۲۶ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۶

چکیده

در این مطالعه تاثیر قارچ-ریشه *Rhizophagus irregularis* و کود زیستی نیتروکسین به صورت تنهایی و در ترکیب با هم در کنترل زیستی بیماری پژمردگی نخود ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی اثر بخشی این تیمارها با اندازه‌گیری تغییرات رنگدانه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدی و ارزیابی شدت بیماری‌زایی انجام گرفت. یک طرح بلوک‌های کاملا تصادفی در هشت تیمار و سه تکرار مستقل از هم در شرایط گلخانه انجام گرفت. نتایج ما نشان داد که میزان رنگدانه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدی در گیاهان آلوده بدون تیمار کودهای زیستی به میزان معنی‌داری کاهش یافته است در حالیکه که شدت بیماری‌زایی افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش رنگدانه‌های کلروفیل a و کارتنوئید در تیمار نیتروکسین مشاهده شد درحالیکه بیشترین میزان افزایش کلروفیل b و ab در تیمار قارچ-ریشه ثبت گردید. تقریبا بیشترین میزان تغییرات در صفات اندازه‌گیری شده، مربوط به تیمار قارچ-ریشه بود. درحالیکه تمام تیمارها قادر به افزایش اجزاء عملکرد نسب به شاهد بودند. نتایج حاصل از ارزیابی شدت بیماری‌زایی در گیاهان بیمار تلقیح شده با کودهای زیستی نشان داد ترکیب دو کود زیستی باعث کاهش معنی‌داری در میزان شدت بیماری شده است. با توجه به نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که استفاده از مخلوط دو کود زیستی به صورت مخلوط با بستر کشت می‌تواند با افزایش اجزاء عملکرد گیاه، مقاومت آن را نسبت به تنش بیماری افزایش دهد.

کلمات کلیدی: آزوسپریلیوم، ازتوباکتر، اجزاء عملکرد، شدت بیماری، قارچ ریشه، کود زیستی

Biological control of fusarium wilt of chickpea using *Rhizophagus irregularis* fungus and nitroxin bio-fertilizer

Mortaza Ghorbani[1]✉, Seyed Kazazem Sabagh[2], Asadoolah Karimi[3]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, University of Birjand, Birjand, Iran. [2]Department of Biology, Campus of Science, Yazd University, Yazd, Iran. [3]Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. ✉ mghorbany@birjand.ac.ir

Received: 8 April 2021 Revised: 15 April 2021 Accepted: 16 May 2021

Abstract

In this study, the effect of *Rhizophagus irregulariss* mycorrhiza and nitroxin bio-fertilizers alone and in combination form was evaluated on control of chickpea wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Evaluation of effectiveness of these treatments was done through measurement of chlorophyll and carotenoid pigments, and disease severity. A factorial experiment based on randomized complete block design by eight treatments with three replications was conducted under greenhouse condition. Our results showed that the amount of chlorophyll and carotenoid pigments were significantly decreased in infected plants without biofertilizer treatment while disease severity was increased. The highest increase in chlorophyll a and carotenoid pigments was observed in nitroxin treatment while the highest increase in chlorophyll b and ab was recorded in mycorrhizae treatment. Approximately, the maximum change in measured parameters was related to mycorrhiza treatment while all treatments were able to increase yield components compared to control plant. The results of disease severity assessment in infected plant inoculated with bio-fertilizers showed that application of these bio-fertilizers in combination form caused a significant reduction in disease severity. Based on these results, use of both bio-fertilizers combined with soil could increase plant resistance to disease stress by the increase of yield components

Keywords: *Azotobacter*, *Azospirillum*, Bio-fertilizer, Disease Severity, Mycorrhizae, Yield Components

How to cite:

Ghorbani M, Sabagh SK, Karimi K, 2022. Biological control of fusarium wilt of chickpea using *Rhizophagus irregularis* fungus and nitroxin bio-fertilizer. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (4): 61–70.

مقدمه

نخود زراعی (*Cicer arietienum* L.) با دارا بودن منابع غنی غذایی و پروتئین ارزان قیمت در سطح جهان سومین (Jalota *et al.* 2006) و در ایران پس از لوبیا دومین حبوبات مهم به‌شمار می‌رود (Ganjeali *et al.* 2011). بیماری پژمردگی نخود ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo and K. Sato) (FOC) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خاکزاد نخود بشمار می‌آید. این بیماری در شش قاره جهان گسترش یافته است که کاهش عملکرد سالیانه نخود در اثر این بیماری بین ۱۰ تا ۱۵ درصد گزارش شده است، ولی بیماری می‌تواند در شرایط همه‌گیری کل محصول را از بین ببرد (Navas-Cortés *et al.* 2000). استفاده از قارچ کش‌ها برای کنترل بیماری به دلیل خاکزاد بودن آن چندان موفقیت آمیز نبوده است (Delany *et al.* 2000). یکی از بهترین روش‌های مبارزه با بیماری‌های خاکزاد، کنترل زیستی آنها به وسیله عوامل کنترل کننده زیستی مانند تثبیت کنندگان ازت و قارچ ریشه‌ها می‌باشد (Arora *et al.* 2001; Bardin *et al.* 2004; Hallmann *et al.* 2001). کودهای زیستی شامل عوامل باکتریایی و قارچی مفید و مواد به دست آمده از فعالیت آن‌ها می‌باشند. کود زیستی نیتروکسین حاوی موثرترین باکتری‌های تثبیت کننده ازت از جنس *Azotobacter* Beijerinck, 1901 و *Azospirillum* Tarrand *et al.* 1979. می‌باشد که علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا باعث متعادل کردن جذب عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف مورد نیاز گیاه می‌شود.

این عوامل زیستی با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه نظیر انواع هورمون‌های تنظیم کننده رشد مانند اُکسین، جیبرلین و همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف و انواع آنتی‌بیوتیک‌ها سبب رشد و توسعه ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان شده و همچنین موجب افزایش کمیت و کیفیت محصول می‌گردد (Aghbashlo *et al.* 2019).

قارچ ریشه‌ها با افزایش جذب آب و عناصر غذایی برای گیاهان، تغییر در مواد شیمیایی بافت گیاهی، رقابت با بیمارگرها جهت جذب مواد غذایی، تغییر در ساختار ریشه، کاهش تنش‌های محیطی و همچنین افزایش جمعیت باکتری‌های مفید خاک به مدیریت بیماری‌های قارچی، شبه قارچی، نماتودی، باکتریایی، فیتوپلاسمایی و فیزیولوژیک گیاهان کمک می‌کنند.

در گوجه فرنگی آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی، تیمار گیاهان آلوده با قارچ-ریشه باعث کاهش زادمایه‌ی قارچ عامل بیمارگر و همچنین کاهش میزان بافت مردگی ریشه شده است (Akköprü & Demir 2005; Nemec & Datnoff 1993). نتایج مشابهی در خصوص گیاه یونجه آلوده با قارچ‌های *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold و *F. oxysporum* f. sp. *medicagenis* مایه‌زنی‌شده با سه جدایه از قارچ-ریشه *Rhizophagus irregularis* (Błaszk., Wubet, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüsler, نیز به دست آمده است که نشان می‌دهد علاوه بر افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه یونجه، میزان زادمایه این دو بیمارگر در گیاه بیمار نیز کاهش می‌یابد (Hwang *et al.* 1992).

کاربرد قارچ-ریشه *R. irregularis* باعث کاهش علایم پوسیدگی ریشه لوبیا بر اثر *F. phaseoli* f. sp. *solani* و همچنین، کاهش معنی‌دار مقدار دنا ژنومی بیمارگر در ریشه شده است (Filion *et al.* 2003).

بسیاری از مطالعات، اثر حفاظتی قارچ - ریشه در برابر بیمارگرهای عفونی را در گیاهان نشان داده‌اند. اثر بازدارندگی قارچ - ریشه بر روی بیمارگرهای خاکزاد مانند *Rhizoctonia solani* J. G. Kühn (Haryuni & Dewi 2016)، *Macrophomina* Petr. و *Fusarium* Link (Nafady *et al.* 2019, Dugassa *et al.* 1996) به اثبات رسیده است.

بیماری پژمردگی فوزاریومی نخود همواره یکی از مهمترین بیماری‌های این محصول در ایران می باشد. استفاده از کودهای زیستی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی ایجاد و علاوه بر باعث کاهش مصرف سموم شیمیایی، باعث حفاظت از محیط زیست نیز می‌شود. در این تحقیق کارایی دو کود زیستی نیتروکسین حاوی باکتری های *Azotobacter* و *Azosprillium* و قارچ ریشه *R. irregularis* کنترل زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی با بررسی تغییر در اجزاء عملکرد و شدت بیماری زایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه تیمار

نخود رقم ILC_{482} حساس به بیماری پژمردگی فوزاریومی، از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان تهیه گردید. زادمایه قارچ-ریشه GI از شرکت زیست فناور توران تهیه و به میزان ۱۵ درصد حجمی به خاک اضافه شد. کود نیتروکسین در بسته بندی تجاری از فروشگاه گلبرگ مشهد خریداری شد.

۲۰ گرم در لیتر از گرانول تجاری باکتری ($۱۰^{۷}$ اسپور در میلی-لیتر) برای تیماردهی بذور استفاده گردید. جدایه قارچ FOC که قبلا از ریشه نخود آلوده به قارچ جداسازی شده و بیماری‌زایی آن به اثبات رسیده بود از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه کردستان تهیه گردید و بر روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar, Merck, Germany) در داخل تشتک‌های پتری به قطر ۹ سانتی‌متر کشت شده و در انکوباتور با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

کاشت گلخانه‌ای

بذور نخود به مدت ۱۵-۱۲ دقیقه با هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضد عفونی و سه دفعه و هر دفعه به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر استریل شسته شدند. از گلدان‌های ۱/۵ کیلویی حاوی مخلوط خاک دو بار سترون شامل خاک بِکر و ماسه شسته شده به نسبت ۱:۱، برای کشت استفاده شد. تعداد سه عدد بذر ضدعفونی شده با کود زیستی نیتروکسین مایع آغشته (۲۰ گرم از گرانول تجاری باکتری در ۱ لیتر آب) و داخل هر گلدان قرار داده شد. از زادمایه قارچ ریشه به صورت ماسه حاوی اسپورهای قارچ به نسبت ۱۵ درصد حجمی استفاده شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط دمایی ۲۰ - ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و به طور مرتب هر دو روز یک بار آبیاری انجام شد. برای تیمارهای قارچ ریشه از محلول مکمل غذایی لانگ اِشتون استفاده گردید.

تهیه زادمایه و مایه‌زنی گیاهان

از بذور گندم سِترون در محیط مرطوب برای تهیه زادمایه استفاده گردید به اِرلن حاوی ۵۰۰ گرم بذر گندم سترون یک قرص از پرگنه تازه رشد کرده قارچ بیمارگر اضافه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰-۱۴ روز نگهداری شد. در مرحله ۴-۲ برگی گیاهچه های تازه رشد کرده، خراش کوچکی در محل طوقه و ریشه ایجاد و سپس یک گرم بذر کلنیزه شده گندم در کنار زخم قرار داده و به وسیله خاک سترون روی آن پوشانده شد. از بذور گندم سترون فاقد زادمایه قارچ جهت تیمارهای شاهد استفاده گردید.

طرح آزمایشی

این آزمون با هشت تیمار شامل قارچ-ریشه به همراه گیاه سالم (Ri)، نیتروکسین به همراه گیاه سالم (N)، قارچ-ریشه + نیتروکسین + گیاه سالم نخود (Ri -N)، قارچ-ریشه + بیماری (Ri-Foc)، نیتروکسین + بیماری (N-Foc)، قارچ-ریشه + نیتروکسین + گیاه بیمار (Ri-N-Foc)، گیاه بیمار بدون تیمار کودی (Foc) و گیاه نخود سالم (Sh) با سه تکرار برای هر تیمار در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی انجام شد.

ارزیابی و تعیین شدت بیماری

برای ارزیابی شدت آلودگی و عکس‌العمل گیاهان در مقابل قارچ عامل بیماری، چهار هفته بعد از اعمال بیماری از نمره‌دهی صفر تا ۵ استفاده شد (Landa *et al*. 2006). عدد صفر: ظاهر بوته و ریشه‌ها کاملا سالم، عدد ۱: قهوه‌ای شدن ریشه تا میزان ۲۰٪، عدد ۲: قهوه‌ای شدن ریشه تا میزان ۴۰-۲۱٪ ، عدد ۳: قهوه‌ای شدن و نکروز ریشه‌ها تا میزان۶۵-۴۱ ٪ و عدد ۴: قهوه‌ای شدن و نکروز ریشه‌ها بالاتر از ۶۵٪ .

اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید

از بافت برگی گیاهان تیمار شده و شاهد، چهار هفته بعد از تلقیح بیمارگر برای اندازه‌گیری رنگدانه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدی استفاده شد. برای اندازه‌گیری این رنگدانه‌ها، ابتدا یک گرم برگ تر گیاه وزن و سپس به تدریج با پنج میلی‌لیتر آستون ۸۰ درصد سائیده شد. عمل استخراج تا حصول یک محلول بی‌رنگ ادامه یافت. پس از سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه، از محلول رویی برای جذب نوری با استفاده از دستگاه طیف سنج استفاده گردید. از طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر به‌ترتیب جهت اندازه‌گیری رنگدانه های کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید استفاده شد. مقدار رنگدانه‌ها برحسب میلی‌گرم در گرم بافت تر برگ و از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شدند (Arnon 1967).

Chlorophyll a= (19.3´A663-0.86´A645) V/100W
Chlorophyll b= (19.3 × A645-3. 6 × A663) V/100W
Total Chlorophyll= Chlorophyll a + Chlorophyll b
Carotenoids= 100 (A470) - 3.27 (µg chl. a) – 104 (µg chl. b)/227

اندازه‌گیری صفات زراعی

به منظور بررسی اثر کودهای زیستی بعد از تلقیح قارچ بر میزان رشد گیاهچه‌های نخود، از هر تیمار به طور تصادفی سه گیاهچه انتخاب و طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی گیاهچه‌ها اندازه‌گیری و ثبت شد (Pradeep Kumar *et al*. 2010). تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ver9.4 و مقایسات میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ انجام گردید. نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

بیماری پوسیدگی ریشه نخود همواره یکی از مهمترین بیماری‌های این محصول در ایران می‌باشد. استفاده از سموم شیمیایی علاوه بر خطرات زیست محیطی باعث بالا رفتن هزینه-های تولید می‌شود. بنابراین کنترل بیماری با استفاده از عوامل زیستی می‌تواند جایگزینی مناسبی برای روش‌های شیمیایی باشد. نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمارها در سطح اطمینان ۱ درصد ($p \leq 0.01$) تاثیر معنی داری بر شدت بیماری‌زایی داشته‌اند (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس داده های مربوط به شدت بیماری‌زایی، میزان رنگدانه‌های کلروفیل و کارتنوئید تحت تاثیر تیمارهای کودهای بیولوژیک در نخود زراعی آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی.

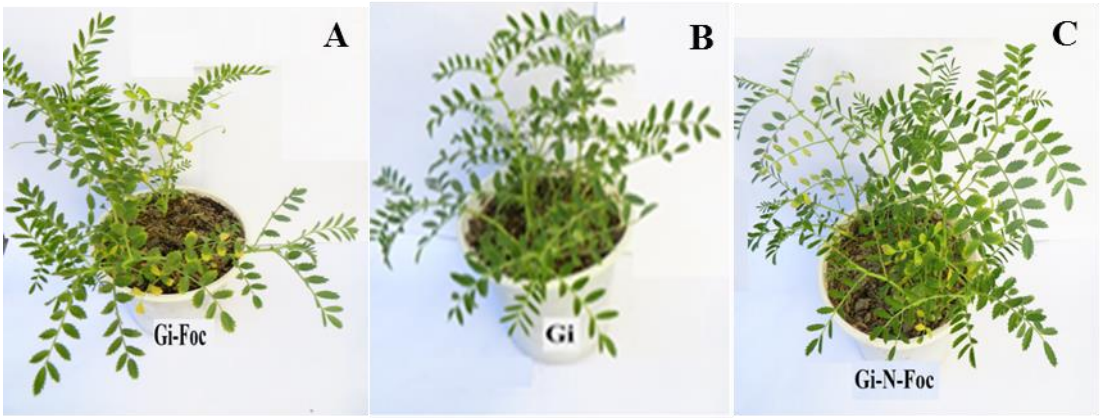
Table1. Analysis of variance of related data to disease severity, chlorophyll and carotenoid pigments affected by bio-fertilizers in infected chickpea plants with fusarium wilting disease.

		Mean of squares				
Source of variances	Freedom	Carotenoid content	Chl. a content	Chl. b content	Chl. a content	Disease severity
Treatment	7	13.6**	218**	66.5**	58.9**	1337**
Error	16	0.17	4.24	2.55	1.02	1.74
CV		3.30	10.36	8.98	3.56	8.34

*,** and ns are respectively significant level at 1%, 5% and no significant difference.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که استفاده از زادمایه بیمارگر به تنهایی بدون اعمال تیمار کودی مورد نظر توانسته است بیشترین میزان بیماری را ایجاد کند. کمترین مقدار شدت بیماری در تیمار مخلوط قارچ-ریشه و نیتروکسن مشاهده گردید (جدول ۲).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تیمارهای مخلوط قارچ-ریشه + نیتروکسین، قارچ-ریشه تنها و نیتروکسین تنها به‌ترتیب میزان شدت بیماریزایی را در سطح ۸۴، ۷۶/۶۷ و ۷۲/۳۴ درصد کاهش داده‌اند. همان طور که در شکل ۱مشاهده می‌شود کاربرد کودهای زیستی به‌ویژه قارچ-ریشه توانسته است باعث کاهش میزان زردی اندام‌های هوایی بوته‌ها در مقایسه با گیاه بیمار فاقد تیمار کودی شود.



شکل ۱. تاثیر قارچ-ریشه *Rhizophagus irregularis* و نیتروکسین حاوی باکتری‌های *Azotobacter* و *Azosprillium* به تنهایی و ترکیبی بر شدت بیماری‌زایی گیاه نخود زراعی آلوده و غیر آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی (شاهد). **A.** تیمار کودی قارچ-ریشه با عامل بیماری، **B.** قارچ-ریشه، **C.** قارچ-ریشه + نیتروکسین و بیماری.

Figure 1. The effect of *Rhizophagus irregularis* and Nitroxin bio-fertilizer containing *Azosprillium* and *Azotobacter* bacteria alone and in combination forms on disease severity in infected and non-infected with fusarium wilt disease (control) chickpea plants**. A.** Mycorrhizal fertilizer treatment with disease, **B**. Mycorrhizae, **C**. Mycorrhizae + Nitroxin + Disease.

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق چنین استنباط می‌شود که استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد و قارچ‌های همزیست با ریشه با بالا بردن سطوح مقاومتی گیاه می‌توانند در جهت بهبود شرایط رشدی گیاه مفید واقع شوند (Kohler *et al.* 2006). با کاربرد کودهای زیستی، جذب عناصر غذایی توسط ریشه‌ها بیشتر شده و این امر منجر به افزایش رشد رویشی در گیاه و تولید برگ‌های بیشتر می‌شود در نتیجه، افزایش تعداد برگ‌ها به منزله افزایش سطح جذب نوری و سطح فتوسنتزی گیاه عمل می‌نمایند (Aghbashlo *et al.* 2019).

تاثیر دو قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* (T.H.Nicolson & Gerd.) C.Walker & A.Schüßler و *R. irregularis* بر بیماری پوسیدگی ریشه نخود فرنگی با عامل *F. solani* f. sp. *pisi* در شرایط گلخانه‌ای نشان داده است که کاربرد قارچ-ریشه توانسته سطوح مقاومتی گیاهان بیمار را با افزایش فاکتورهای رشدی افزایش دهد (Mohammadi & Kazemi 2002) که این نتایج با مشاهدات تحقیق حاضر مطابقت دارد. همانطور که در نتایج مقایسه میانگین دیده شد بیشترین کاهش بیماری مربوط به تیمار مخلوط قارچ-ریشه + نیتروکسین در گیاهان بیمار بود که می‌توان این استنباط را داشت که باکتری های ریزوسفر ریشه و قارچ همزیست ریشه در همکنش با هم، اثر سینرژیستی را بر کاهش بیماری داشته است. بررسی اثر کودهای زیستی نیتروکسین، قارچ-ریشه (میکوریز) و ورمی کمپوست در خیار گلخانه‌ای آلوده به بیماری مرگ گیاهچه ناشی *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp باعث افزایش عملکرد و مقاومت نسبی خیار به بیماری مرگ گیاهچه شده است (Sabbagh *et al.* 2016).

بررسی ظاهری و مقایسه زیست توده بافت‌های ریشه گیاهان تیمار شده و بدون تیمار نشان داد که تراکم ریشه در کلیه تیمارها در مقایسه با گیاه آلوده، از افزایش قابل ملاحظه‌ای برخوردار بوده است. اگرچه در مقایسه با شاهد بدون بیماری و سالم بافت ریشه دارای تراکم خوبی بوده است ولی بیماری باعث کاهش تراکم ریشه‌ها شده است که تیمارهای کودی توانسته است این کاهش حجم را تا اندازه قابل قبولی جبران و خسارت بیماری را از طریق بهبود شرایط رشدی گیاه کاهش دهند (شکل ۲). همانطوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود تراکم و ارتفاع ریشه در تیمار قارچ-ریشه بیشتر از سایر تیمارها می‌باشد در مجموع تمام تیمارهای کودی در میزان زیست توده ریشه موثر بوده‌اند ولی داده‌های آماری نشان داد که بالاترین میزان افزایش مربوط به تیمار قارچ-ریشه می‌باشد (جدول ۳).

ریشه‌های میکوریزی تراوشات غنی‌تری داشته و ریسه‌های خارج ریشه‌ای این قارچ‌ها، بستر مناسبی برای رشد بعضی باکتری‌ها می‌باشد. همچنین ریسه‌های خارج ریشه‌ای این قارچ‌ها باعث چسبیدن ذرات ریز خاک به یکدیگر و تشکیل خاکدانه‌ها شده که باعث بهبود جریان هوا در خاک، و بهبود شرایط رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های خاک و همچنین افزایش زیست توده ریشه‌ها می‌شود (Rouphael *et al.* 2015)، نتایج افزایش کمیت ریشه‌ها در این تحقیق موید نتایج تحقیقات مشابه می باشد. تاثیر تیمارهای کودی قارچ-ریشه، کمپوست و کودهای شیمیایی و مقایسه تاثیر هر یک از آنها بر عملکرد، اجزای عملکرد و القاء تحمل به بیماری اسکب گندم ناشی از *Fusarium graminearum* Schwabe نشان داد که کاربرد مخلوط کودهای زیستی و شیمیایی می‌تواند باعث القاء مقاومت اکتسابی فراگیر (سیستمیک) در گیاهان بیمار شود (Sabbagh *et al.* 2016).

شکل ۲. تاثیر قارچ-ریشه *Rhizophagus irregularis* و نیتروکسین حاوی باکتری های *Azotobacter* و *Azosprillium* به تنهایی و ترکیبی بر رشد ریشه در گیاهان نخود زراعی آلوده و غیر آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی (شاهد). **A**. تیمار بیماری بدون کاربرد کود، **B**. نیتروکسین، **C**. قارچ-ریشه، **D**. قارچ-ریشه + نیتروکسین، **E**. تیمارشاهد سالم بدون تلقیح بیماری و کود زیستی.

Figure 2. The effect of *Rhizophagus irregularis* and Nitroxin bio-fertilizer containing *Azosprillium* and *Azotobacter* bacteria alone and in combination forms on root growth in infected and non-infected with

fusarium wilt disease (control) chickpea plants. **A.** Disease treatment without bio-fertilizer application**, B.** Nitroxin, **C**. Mycorrhizae, **D.** Mycorrhizae + Nitroxin, **E.** Control without disease and bio-fertilizer.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای کودی تاثیر معنی‌داری ($p\leq0.01$) بر میزان کلروفیل a، کلروفیلb، کلروفیل ab و کارتنوئید داشته است (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین در هر سه فاکتور رنگدانه‌ای نشان می‌دهد که تیمار شاهد سالم و تیمارکودهای زیستی در یک گروه آماری قرار گرفته و اختلاف آماری با هم نداشتند اما با شاهد آلوده بدون تلقیح کود زیستی دارای اختلاف معنی‌داری بودند (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد. بیشترین میزان کلروفیل a (۹۱/ ۳۰میلی‌گرم/گرم وزن تر) و b (۲۳/۸۷ میلی‌گرم/گرم وزن تر) به‌ترتیب مربوط به تیمارهای نیتروکسین و قارچ ریشه بدون بیماری، و همچنین کمترین میزان کلروفیل a و b به ترتیب به میزان ۱۸/۲۶ و ۱۰/۶۳ میلی‌گرم/گرم وزن تر، در شاهد آلوده مشاهده گردید، که باهم دارای اختلاف معنی‌داری بودند.

در بررسی اجزا عملکرد گیاهان بیمار تیمار شده شاخص‌های رشدی مربوط به ریشه از تغییرات بیشتری بهره‌مند شدند که این تغییرات توانسته است پارامترهای رشدی دیگر در اندام‌های هوایی را تحت تاثیر قرار دهد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که کاربرد کودهای زیستی باعث افزایش عملکرد گیاه چه در حالت بیماری و چه در حالت تنش‌های دیگر گردیده است (Navas-Cortés *et al*. 1998) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. تیمار فلفل‌های آلوده به قارچ *Phytophthora capsici Leonian* با قارچ-ریشه باعث کاهش چشمگیر مرگ و میر ناشی از این بیماری شده است (Zhang *et al*. 2018). همچنین کاربرد دو گونه از قارچ-ریشه و باکتری *Pseudomonas fluorescens (Flügge 1886) Migula, 1895* باعث کاهش چشمگیری در میزان شدت بیماری در لوبیای فرانسوی آلوده به بیماری پوسیدگی ریشه، ناشی از قارچ *R. solani* شده است (Neeraj 2011).

در اکثر مطالعات تیمار ترکیبی قارچ-ریشه و باکتری باعث کاهش معنی‌دار پوسیدگی ریشه و افزایش تراکم ریشه شده است (Akhtar & Siddiqui 2010; Akköprü & Demir 2005) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

باکتری‌های افزایش دهنده رشد با کاتابولیسم‌های قابل تغییر، توانایی بالای کلونیزه کردن ریشه‌ها و تولید آنزیم‌ها و متابولیت‌هایی به مقاوم سازی گیاه در برابر تنش‌های زنده وغیره زنده کمک می‌کنند (Vessey 2003).

جدول ۲. مقایسه میانگین داده های مربوط به شدت بیماری‌زایی، میزان رنگدانه‌های کلروفیل و کارتنوئید تحت تاثیر تیمارهای کودهای بیولوژیک در نخود زراعی آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی.

Table 2. Mean comparison of related data of disease severity, chlorophyll and carotenoid pigments affected by bio-fertilizers in infected chickpea plants with fusarium wilt disease.

Carotenoid Treatments	content (mg/g fw)	Chl ab content (mg/g fw)	Chl b Content (mg/g fw)	Chl a content (mg/g fw)	Disease severity (%)
Control	12.95b	48.3b	18.3b	30.26[a]	0e
Foc*	7.77d	28.90d	10.63[e]	18.26[d]	59.66[d]
Rhizophagus irregularis	13.88a	54.2a	23.87[a]	30.45a	0 e
Ri- *Foc*	11.40c	41.19c	16.98b	24.21[c]	76.67c
N	14.29a	53.30a	22.39[a]	30.91[a]	0 e
N-Foc	12.74b	40.97c	13.48[d]	27.28[b]	72.34[b]
Ri-N	14.24a	52.59 a	22.22[a]	30.37[a]	0 e
Ri-N-Foc	12.5b	44.51c	14.67c	29.83 [ab]	84[a]

In each column, means followed by same letters are not significantly different at the level of 5%.
*FOC: *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*; Ri: *Rhizophagus irregularis*; N: Nitroxin.

طبق نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین مشاهده گردید که بیشترین میزان تغییرات کلروفیل a (۲۳/۸۷میلی‌گرم/ گرم وزن تر) و کلروفیل ab (۵۴/۲۴ میلی‌گرم/ گرم وزن تر) مربوط به تیمار قارچ ریشه ولی بیشترین میزان افزایش در

کلروفیل a مربوط به تیمار نیتروکسین تعیین گردید ولی اختلاف آن با تیمار قارچ ریشه معنی دار نبود (جدول ۲).

نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مقدار کارتنوئید در بین تیمارهای ذکر شده با ۱۴/۲۹ میلی‌گرم/ گرم وزن تر مربوط به تیمار نیتروکسین بود و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد آلوده با ۷/۷۷ میلی‌گرم/ گرم وزن تر می‌باشد که اختلاف معنی داری باهم دارند (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که کاربرد قارچ ریشه تاثیری بسزایی در افزایش میزان رنگدانه کارتنوئیدی نداشته است.

افزایش رنگدانه‌های کلروفیلی و کارتنوئیدی در تیمارهای کودهای زیستی می‌تواند مربوط به تولید و ترشح ترکیبات تحریک کننده رشد گیاه و یا برخی هورمون‌های تنظیم کننده رشد باشد که توسط ریزموجودات در خاک تولید شده و رشد و نمو فعالیت بیوشیمیایی گیاه را تحت تاثیر قرار داده است (Barea *et al.* 2013). در این تحقیق، بررسی تغییرات فنوتیپی ریشه گیاهان آلوده تیمار شده با کودهای زیستی نشان از افزایش تراکم ریشه دارد که با نتایج کارهای مشابه مطابقت دارد (Onasanya *et al.* 2021; Kadyampakeni 2020).

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تیمارها در سطح ۱ درصد ($p\leq0.01$) تاثیر معنی‌داری بر وزن تر و خشک ریشه داشته اند (جدول ۳). بیشترین میزان افزایش وزن تر ریشه۳/۸ گرم و وزن خشک ریشه ۰/۳۵گرم مربوط به تیمار قارچ-ریشه بدون اعمال بیماری بود. با توجه به نتایج به دست آمده ترکیب دو کود زیستی نتوانسته میزان وزن تر و خشک ریشه را نسبت به شاهد تغییر قابل توجهی بدهد (جدول ۴). علت عدم افزایش صفات عملکری مربوط به ریشه با استفاده تیمار کودهای زیستی می-تواند ناشی از عدم زمان لازم برای انجام فعالیت پروتئینهای ساختاری لازم برای تشکیل بافت ریشه باشد. جذب و انتقال عناصر غذایی به ویژه فسفر و نیتروژن به اندام‌های هوایی به ویژه در شرایط بیماری می‌تواند توجیه مناسبی بر عدم کارایی این عناصر در فرایند تشکیل ساختار ریشه باشد. به‌علاوه زمان اندک بررسی هم می‌تواند مزید بر علت باشد.

استفاده از کود زیستی نیتروکسین به همراه قارچ-ریشه در آویشن باغی تحت تنش خشکی توانسته است تاثیر قابل توجهی در میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و کارتنوئیدی و همچنین تعداد سرشاخه‌ها داشته باشد (Goshasbi *et al.* 2020).

کمترین وزن تر ساقه مربوط به شاهد (۱/۵۵ گرم) آلوده و بیشترین وزن تر ساقه در تیمارهای بدون اعمال آلودگی با ۳/۵ گرم مربوط به تیمار برهمکنش قارچ-ریشه و نیتروکسین می-باشد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در تیمارهای اعمال با بیماری هرچند که اختلاف معنی داری باهم نداشتند اما کمترین کاهش وزن تر ساقه با ۳۴/۳۲ گرم مربوط به تیمار قارچ-ریشه بیماری بود که دارای اختلاف معنی داری با شاهد آلوده می‌باشد.

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر قارچ ریشه *Rhizophagus irregularis* و نیتروکسین حاوی باکتری های *Azotobacter* و *Azosprillium* بر صفات زراعی بوته‌های نخود در گیاهان سالم و آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی.

Table 3. Analysis of variance of the effect of *Rhizophagus irregularis* fungus and Nitroxin bio-fertilizer containing *Azosprillium* and *Azotobacter* bacteria on yield components in infected and non-infected chickpea plants with fusarium wilt disease.

		Mean squares							
SV	freedoom	Stem diameter	Number of lateral ranches	Root height	Plant height	Dry stem Weight	Fresh sten weigh	Dry root weight	Fresh root weight
Treatment	7	1.28**	3.50*	51.8**	19.31**	0.026**	0.699**	0.015**	1.92**
Error	16	0.937	0.583	3.96	1.68	0.0007	0.062	0.00007	0.075
CV		9.366	17.29	8.887	6.9	6.54	10.36	4	6.99

*, ** and ^{ns} are respectively significant level at 5%, 1% and no significant difference.
*FOC: *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*; Ri: *Rhizophagus irregularis*; N: Nitroxin.

همانطور که در جدول مقایسه میانگین مشاهده می‌شود کمترین میزان وزن تر ساقه (۱/۵ سانتی‌متر) مربوط به شاهد آلوده به بیماری دیده شد در حالیکه بیشترین وزن تر ساقه در تیمار ترکیبی قارچ ریشه و نیتروکسین (۳/۵ گرم) مشاهده گردید.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در تیمارهای اعمال با بیماری هرچند که تغییرات صفات عملکردی اختلاف معنی داری با هم نداشتند اما کمترین میزان تغییر در وزن خشک ساقه ۰/۳ گرم مربوط به بیماری بود که دارای اختلاف معنی داری با تیمارهای دیگر نشان داد. بیشترین وزن خشک ساقه را تیمار مخلوط قارچ-ریشه و نیتروکسین به میزان ۰/۵۸ گرم به خود

اختصاص داد (جدول ۴). اختلاف ناچیز این مقدار با تیمار قارچ ریشه به تنهایی (۰/۵۴ گرم) نشان دهنده نقش موثر قارچ ریشه در افزایش میزان این صفت دارد. بیشترین قطر ساقه با ۴/۳۳ میلی‌متر مربوط به تیمار قارچ-ریشه و کمترین قطر ساقه با ۲/۱۶ میلی‌متر مربوط به تیمار گیاه بیمار بود.

بررسی پارامترهای اندام هوایی نشان داد که کمترین ارتفاع اندام هوایی با ۱۴ سانتی‌متر به گیاه بیمار اختصاص دارد که این نتیجه با توجه به نتایج صفات زراعی قبلی شاهد آلوده دور از انتظار نبود. نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین ارتفاع اندام هوایی با ۲۳/۳۳ سانتی‌متر در تیمار قارچ-ریشه + نیتروکسین به دست آمد که اختلاف معنی داری با شاهد آلوده داشت.

بیشترین ارتفاع ریشه با ۲۹/۶۶ سانتی‌متر مربوط به تیمار قارچ-ریشه + نیتروکسین بدون اعمال بیماری و کمترین ارتفاع ریشه (۱۶/۳۳ میلی‌متر) مربوط به تیمار شاهد آلوده است. می‌باشد (جدول ۴). استفاده از باکتری‌های تقویت کننده رشد به همراه کاربرد قارچ-ریشه در گیاه *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni نشان داده که تمام پارامترهای رشدی گیاه و اجزاء عملکرد به میزان قابل توجهی افزایش داشته است. در این پژوهش افزایش عملکرد بدون وجود تنش بوده است که بخشی از نتایج تحقیق که مربوط به گیاهان سالم تیمار شده با کودهای زیستی می‌باشند را مورد تائید قرار می‌دهد (Vafadar *et al.* 2014). استفاده از باکتری ریزوبیوم به صورت بذر مال در ارقام مختلف نخود زراعی تحت تنش بیماری پوسیدگی ریشه نشان داده که کاربرد این کود زیستی به میزان قابل توجهی میزان بیماری را با افزایش اجزاء عملکرد مانند ارتفاع گیاه، تعداد بذر و وزن ریشه، کاهش داده است (Khalequzzaman 2015). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین تعداد شاخه فرعی۵/۶۶ عدد مربوط به تیمار قارچ-ریشه و کمترین انشعاب شاخه با ۲/۳۳ عدد مربوط به تیمار شاهد آلوده بود (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین وزن تر، خشک ریشه و ساقه، ارتفاع، تعداد شاخه فرعی و قطر ساقه در گیاه نخود سالم و آلوده تیمار شده با قارچ ریشه *Rhizophagus irregularis* و نیتروکسین حاوی باکتری‌های *Azotobacter* و *Azosprillium*

Table 4. Mean comparison of fresh and dry weight of root, stem, plant weight, lateral branches and stem diameter in infected and non-infected chickpea plants treated with *Rhizophagus irregularis* and Nitroxin bio-fertilizer containing *Azosprillium* and *Azotobacter* bacteria.

Treatments	Stem diameter (cm)	Number of lateral branches	Root height (cm)	Plant height (cm)	Dry stem weight (g)	Fresh stem weigh (g)	Dry root weight (g)	Fresh root weight (g)
Control	2.33^{e}	4.66^{c}	21.50^{c}	20.16^{bc}	0.40^{bc}	2.54^{bc}	0.19^{c}	0.25
Foc*	2.16^{ef}	2.32^{d}	16.33^{d}	14^{e}	0.30^{e}	1.55^{e}	0.14^{e}	1.28^{e}
Ri	4.33^{a}	5.65^{a}	22.33^{b}	19^{c}	0.54^{a}	2.92b	0.35^{a}	3.98^{a}
Ri- oc	2.83^{de}	4^{b}	23.3^{b}	17.33^{d}	0.37^{dc}	2.23c	0.17^{d}	1.87d
N	3.50^{bc}	5.35^{a}	27.14^{b}	21^{b}	0.43^{b}	2.5^{bc}	0.20^{c}	2.35^{c}
N-Foc	3^{d}	4^{b}	21.21c	18^{dc}	0.35d	2.4^{d}	0.16^{d}	1.81d
Ri-N	3.83^{b}	5.35^{b}	29.66^{a}	23.33^{a}	0.58^{a}	3. 5^{a}	0.29^{b}	2.61^{b}
Ri-N-oc	3.16^{c}	4^{c}	21^{c}	18.50^{dc}	0.41^{bc}	2.23^{c}	0.19^{c}	1.95^{d}

In each column, means followed by same letters are not significantly different at the level of 5%.
*FOC: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*; Gi: Glomus; N: Nitroxin.

اگر چه در این مطالعه تنش از نوع زیستی بوده است ولی کاربرد کودها توانسته است صفات زیستی گیاه را مانند تنش‌های غیر زیستی افزایش دهد و این نشان از تاثیرپذیری فیزیولوژیک گیاهان از عوامل زیستی در راستای افزایش مقاومت سیستمیک باشد که این مقاومت می‌تواند علیه تنش‌های مختلف بروز نماید.

در راستای تحقق کشاورزی پایدار، دسترسی به گونه‌های جدید از قارچ‌های مایکوریزی با پتانسیل بالای رقابتی در خاک و به همراه بیمارگرهای خاکی باید مورد توجه خاص قرار گیرد. استفاده از کودهای زیستی علاوه بر بالا بردن مقاومت سیستمیک گیاهی می‌تواند باعث حاصلخیزی خاک‌های زراعی از طریق

افزایش میکروارگانیسم‌های آن گردد. بر اساس نتایج فوق چنین نتیجه‌گیری می شود که کاربرد قارچ-ریشه باعث مقاومت گیاه می‌شود. تلفیق قارچ-ریشه بهمراه باکتری تاثیر بیشتری از قارچ-ریشه تنها داشته که این امر کنترل تلفیقی بیماری را با استفاده از کودهای زیستی و حتی میزان مناسب کود شیمیایی توجیه می‌نماید. کاربرد همزمان کودها به همراه خاک کشاورزی و یا به صورت بذرپاشی توصیه می شود.

سپاسگزاری

این تحقیق در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل انجام گردید که در اینجا از همکاری مسئولین وقت پژوهشکده کمال تشکر و قدردانی بعمل می‌آید. از سرکار خانم مهندس حمیده خواجه کارشناس محترم پژوهشکده به خاطر کمک در مراحل اجرایی پایان نامه تشکر می شود.

References

Aghbashlo M, Tabatabaei M, Soltanian S, Ghanavati H, 2019. Biopower and biofertilizer production from organic municipal solid waste: an exergoenvironmental analysis. *Renewable Energy* 143: 64–76.

Akhtar M, Siddiqui Z, 2010. Effects of AM fungi on the plant growth and root-rot disease of chickpea. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science* 8: 544–549.

Akköprü A, Demir S, 2005. Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *Journal of Phytopathology* 153: 544–550.

Arora N, Kang S, Maheshwari D, 2001. Isolation of siderophore-producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Current Science* 81(6): 673–677.

Arnon A, 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112–21.

Bardin SD, Huang H-C, Pinto J, Amundsen EJ, Erickson RS, 2004. Biological control of Pythium damping-off of pea and sugar beet by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*. *Canadian Journal of Botany* 82: 291–296.

Barea JM, Pozo MJ, Azcón R, Azcón-Aguilar C, 2013. Microbial interactions in the rhizosphere. *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere* 1: 29–44.

Delany I, Sheehan MM, Fenton A, Bardin S, Aarons S, *et al.*, 2000. Regulation of production of the antifungal metabolite 2: 4-diacetylphloroglucinol in *Pseudomonas fluorescens* F113: genetic analysis of phlF as a transcriptional repressor. The GenBank accession number for the sequence reported in this paper is AF129856. *Microbiology* 146: 537–546.

Dugassa G, Von Alten H, Schönbeck F, 1996. Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of*Linum usitatissimum* L. infected by fungal pathogens. *Plant and Soil* 185: 173–182.

Filion M, St-Arnaud M, Jabaji-Hare S, 2003. Quantification of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using real-time polymerase chain reaction and direct isolations on selective media. *Phytopathology* 93: 229–235.

Ganjeali A, Porsa H, Bagheri A, 2011. Assessment of Iranian chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasms for drought tolerance. *Agricultural Water Management* 98: 1477–1484.

Gong M-F, Han S, Li C, Xu L, Wei G-H, 2011. Isolation of endophytic bacteria from nodule of Sophora alopecuroides and effect of biological control against Fusarium wilt . *Microbiology/Weishengwuxue Tongbao* 38: 865–870.

Goshasbi F, Heidari M, Sabbagh S, Makarian H, 2020. Effect of irrigation interval, bio and non-biofertilizers on yield components and some of biochemical compounds in Thyme (*Thymus vulgaris* L.) *Journal of Horticultural Plants Nutrition* 3: 51–68. (In Persian with English abstract).

Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Miller W, Sikora R, Lindow S, 2001. Endophytic colonization of plants by the biocontrol agent Rhizobium etli G12 in relation to *Meloidogyne incognita* infection. *Phytopathology* 91: 415–422.

Haryuni H, Dewi TSK, 2016. The effects of dose Rhizoctonia binucleat (BNR) and phosphorus to nitrate reductase activity (NRA) and chlorophyll of vanilla seedling (*Vanilla planifolia* andrews). *Journal of Biology and Biology Education* 8: 141–147.

Jalota S, Sood A, Harman W, 2006. Assessing the response of chickpea (*Cicer aeritinum*

L.) yield to irrigation water on two soils in Punjab (India): A simulation analysis using the CROPMAN model. *Agricultural Water Management* 79: 312–320.

Kadyampakeni M. 2020. Interaction of soil boron application with leaf B concentration, root length density, and canopy size of citrus affected by Huanglongbing. *Journal of Plant Nutrition* 43(2): 186-193.

Khalequzzaman K, 2015. Seed treatment with Rhizobium biofertilizer for controlling foot and root rot of chickpea. *International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences* 2: 144–150.

Kohler J, Caravaca F, Carrasco L, Roldan A, 2006. Contribution of *Pseudomonas mendocina* and *Glomus intraradices* to aggregate stabilization and promotion of biological fertility in rhizosphere soil of lettuce plants under field conditions. *Soil Use and Management* 22: 298–304.

Landa BB, Navas-Cortés JA, del Mar Jimenez-Gasco M, Katan J, Retig B, *et al.*, 2006. Temperature response of chickpea cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*: causal agent of Fusarium wilt. *Plant Disease* 90: 365–374.

Nafady NA, Hashem M, Hassan EA, Ahmed HA, Alamri SA, 2019. The combined effect of arbuscular mycorrhizae and plant-growth-promoting yeast improves sunflower defense against *Macrophomina phaseolina* diseases. *Biological Control* 138: 10: 40–49.

Navas-Cortés JA, Hau B, Jiménez-Díaz RM, 1998. Effect of sowing date host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of Fusarium wilt of chickpea. *Phytopathology* 88: 1338–1346.Navas-Cortés JA, Hau B, Jiménez-Díaz RM, 2000. Yield loss in chickpeas in relation to development of Fusarium wilt epidemics. *Phytopathology* 90: 1269–1278.

Neeraj SK, 2011. Organic amendments to soil inoculated arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* treatments reduce the development of root-rot disease and enhance the yield of *Phaseolus vulgaris. European Journal Soil Biology* 47 (5): 287–295 .

Nemec S, Datnoff L, 1993. Pepper and tomato cultivar responses to inoculation with *Glomus intraradices*. *Advances in Horticultural Science* 161–164.

Onasanya O, Hauser S, Necpalova M, Salako F. K, Kreye C, Tariku M, Six J, andPypers P. 2021. On-farm assessment of cassava root yield response to tillage, plant density, weed control and fertilizer application in southwestern Nigeria. Field Crops Research, 262: 108038

Rouphael Y, Franken P, Schneider C, 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae* 196: 91–108.

Sabbagh S, Kermanizadeh B, Gholamalizadeh A, Sirousmehr A, 2016. Effects of fertilizer treatments on components, performance components and induce resistance to wheat scab disease. *Iranian Journal of Filed Crop Science* 47: 77–85. (In Persian with English abstract).

Vafadar F, Amooaghaie R, Otroshy M, 2014. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of Stevia rebaudiana. *Journal of Plant Interactions* 9: 128–136.

Vessey JK, 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255: 571–586.

Zhang BM, Zhi-Bin W ,Ping X, Qiu-Hong W, He B, *et al.*, 2018. Phytochemistry and pharmacology of genus Ephedra. *ChineseJournal of Natural Medicines* 16: 811–828.

This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)